



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la
Agrodiversidad Valenciana

Estudio de la variación de la partición de fotoasimilados en
tomate en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Mejora Genética Vegetal

AUTOR/A: Aguado Vicente, Ander

Tutor/a: González Nebauer, Sergio

Cotutor/a: Molina Romero, Rosa Victoria

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la
Agrodiversidad Valenciana

Estudio de la variación de la partición de fotoasimilados en
tomate en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Mejora Genética Vegetal

AUTOR/A: Aguado Vicente, Ander

Tutor/a: González Nebauer, Sergio

Cotutor/a: Molina Romero, Rosa Victoria

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

RESUMEN

El exceso en el aporte de fertilizantes en los cultivos, desde la Revolución verde, para aumentar la producción están ocasionando serios problemas como la contaminación y eutrofización de las aguas y los acuíferos; contribuyendo a la degradación de los suelos y campos de cultivo, y al cambio climático. Las nuevas normativas encaminadas a una agricultura sostenible requieren una reducción en estos insumos, especialmente de fertilizantes nitrogenados. Lo que estaría relacionado con algunos de los puntos del desarrollo sostenible (ODS). Sin embargo, esta limitación, puede afectar gravemente a la producción de las cosechas. En este contexto, se hace necesario el desarrollo de cultivares con una alta eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE) en condiciones de aporte limitado de N. Este aporte limitado varía el uso y la distribución de fotoasimilados en la planta, afectando a la producción. Se desconoce si existe variabilidad para los cambios que se producen, y que significan diferentes estrategias de respuesta. En el presente trabajo se estudia la variación en el contenido de azúcares solubles, almidón, aminoácidos, %C y %N en distintos genotipos de tomate que han mostrado diferencias en la eficiencia en el uso del N, así como su respuesta frente a una deficiencia de la fertilización nitrogenada.

Los azúcares solubles se acumulan mayoritariamente en tallo o raíz, existiendo diferencias entre genotipos, pero nunca en hoja. La acumulación de almidón tiene lugar principalmente en la raíz. El tallo es el órgano con un mayor contenido en aminoácidos. Existen diferencias significativas entre los genotipos ensayados en el contenidos de estos fotoasimilados sugiriendo diferentes estrategias metabólicas.

La disminución en el aporte nitrogenado provoca un incremento general del contenido en carbohidratos, pero existen diferencias genotípicas en su partición y asignación. El contenido de aminoácidos, en estas condiciones, desciende en tallo y en raíz, pero se mantienen los niveles en hoja de forma consistente. Si bien no se puede definir una única estrategia relacionada con un mejor mantenimiento de la producción, sí que se han observado relaciones consistentes de interés. Tal es el caso del contenido en almidón en raíz ligado a una menor producción cuando el N es no limitante.

SUMMARY

Excess fertilizer application in crops, since the Green Revolution, to increase production is causing serious problems such as water and aquifer pollution, eutrophication, soil degradation, and climate change. New regulations aimed at sustainable agriculture require a reduction in these inputs, especially nitrogen fertilizers. This would be related to some of the Sustainable Development Goals (SDGs). However, this limitation can severely impact crop production. In this context, the development of cultivars with high nitrogen use efficiency (NUE) under limited nitrogen supply is necessary. This limited nitrogen supply alters the use and distribution of photoassimilates in the plant, affecting production. It is unknown if there is variability in the resulting changes, which could signify different response strategies. This study examines the variation in the content of soluble sugars, starch, amino acids, %C, and %N in different tomato genotypes that have shown differences in nitrogen use efficiency and their response to nitrogen deficiency.

Soluble sugars predominantly accumulate in stems or roots, with differences between genotypes but not in leaves. Starch accumulation primarily occurs in roots. Stems have the highest amino acid content. Significant differences in the content of these photoassimilates were observed among the tested genotypes, suggesting different metabolic strategies. Reduced nitrogen supply leads to a general increase in carbohydrate content, but there are genotypic differences in their partitioning and allocation.

Amino acid content decreases in stems and roots under these conditions, but levels remain consistent in leaves. While a single strategy related to better production maintenance cannot be defined, consistent relationships of interest have been observed. This includes the root starch content linked to reduced production when nitrogen is not limiting.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Mejora de la eficiencia en el uso de nitrógeno en sistemas de cultivo intensivo: un reto para una agricultura sostenible	5
1.2. Procesos fisiológicos involucrados en la eficiencia del uso de nitrógeno	6
1.2.1. La eficiencia del uso de nitrógeno y sus componentes	6
1.2.2. Procesos fisiológicos que influyen en la absorción y transporte de nitrógeno inorgánico.	7
1.2.3. Procesos implicados en la eficiencia en el uso del nitrógeno	7
1.2.3.1. Asimilación de nitrógeno	7
1.2.3.2. Partición de aminoácidos	8
1.3. Metabolismo de carbono: síntesis de fotoasimilados	8
1.4. Relación del metabolismo de Carbono y Nitrógeno	8
1.5. Eficiencia en el uso de N (NUE) en tomate	9
2. OBJETIVOS	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1 Material vegetal	12
3.2 Condiciones de cultivo y fertilización	12
3.3 Muestro y procesado del material vegetal	12
3.4 Determinación de carbohidratos totales	13
3.5 Cuantificación de carbono y nitrógeno en porcentaje	13
3.6 Determinación de aminoácidos totales	13
3.7 Análisis estadístico	14
4. RESULTADOS	15
4.1. Variabilidad entre accesiones del contenido en azúcares solubles y almidón en los distintos órganos	15
4.2. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en carbohidratos. Variabilidad entre accesiones	16
4.3. Variabilidad entre accesiones del contenido en aminoácidos en los distintos órganos	18
4.4 Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en aminoácidos. Variabilidad entre accesiones.	18
4.5. Variabilidad entre accesiones del porcentaje de carbono en los distintos órganos	19
4.6. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en %C. Variabilidad entre accesiones	20
4.7. Variabilidad entre accesiones del porcentaje de nitrógeno en los distintos órganos ..	20

.....	20
4.8. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en %N. Variabilidad entre accesiones	21
4.9 Correlaciones a nivel de accesión entre el contenido en C y N y el peso seco	21
4.10 Correlaciones a nivel de accesión entre azúcares solubles, almidón, aminoácidos, y los pesos secos.....	23
4.11. Análisis de componentes principales.....	24
5. DISCUSIÓN	28
5.1. Variación de la producción de biomasa en tomate en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno.	28
5.2. Metabolismo de C/N. Diferencias genotípicas y efecto de la limitación en el aporte de N	29
6. CONCLUSIONES	32
7. ANEXOS	33
ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030	33
8. BIBLIOGRAFÍA	34

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Mejora de la eficiencia en el uso de nitrógeno en sistemas de cultivo intensivo: un reto para una agricultura sostenible

La denominada “Revolución verde” introdujo cambios en las técnicas del manejo y el uso de variedades de alta eficiencia en la cosecha que permitieron un gran crecimiento en la producción agrícola, a partir de los años 1940s. En ese período, se incrementó el nivel de consumo de la población, como consecuencia del uso de grandes cantidades de fertilizantes, plaguicidas y agua, en explotaciones de monocultivos; lo que ocasionó un crecimiento industrial y económico (Ilánez, 2007). Sin embargo, este aumento del rendimiento ha estado ligado a un elevado gasto de insumos, pero no con un uso eficiente de los mismos, especialmente de los fertilizantes (Sobalvarro et al., 2018). Según datos del banco mundial (Banco mundial, 2023), el consumo de fertilizantes se ha incrementado desde finales de la Revolución verde de manera casi exponencial, pasando de los 90,3 kg/ha a los 146,4 kg/ha registrados en 2020. El aumento de la industria agrícola llevó a una mayor disponibilidad de alimentos y, en consecuencia, a un aumento de la población. Esta ha continuado creciendo hasta la actualidad (Erisman *et al.*, 2008), con 7,89 mil millones de personas en 2021 (Banco mundial, 2020), y una cifra esperada de 9,1 mil millones de habitantes en 2050. Estas cifras harán necesario un incremento en la producción de alimentos en un 70% a nivel global (FAO, 2011). Se calcula que se destinan 4750 millones de hectáreas para la agricultura y la ganadería para la producción de alimento. Esta superficie, sin embargo, ha ido disminuyendo debido al aumento demográfico y la expansión de los núcleos urbanos. Además, habría que restarle hasta 1,5 millones de hectáreas de superficie afectada por la salinidad, y los terrenos deteriorados y degradados debido a factores humanos, que ya alcanzan los 1660 millones de hectáreas (FAO, 2021).

El 70% de la extracción mundial de agua dulce se destina a la agricultura, y se prevé que en 2030 haya un déficit global de agua del 40%. Esto se verá agravado por las consecuencias del cambio climático, lo que provocará que hasta 2100 millones de personas no dispongan de agua potable (García Miranda & Miranda Rosales, 2018) y 820 millones sufran hambre en el mundo (FAO, 2019). Todos estos factores de pérdida de recursos hídricos y de superficie cultivable afectan a la producción de alimentos. Ponen en riesgo la seguridad alimentaria global, ocasionando la falta de acceso a alimentos nutritivos de manera regular y su consecuente malnutrición y riesgo de salud (FAO, 2019). Por todo ello, para minimizar la desnutrición y la inseguridad alimentaria, sería necesario aumentar la producción agrícola más rápido que el crecimiento poblacional estimado para dentro de unos años. Dicho aumento deberá producirse principalmente en las tierras agrícolas ya existentes. Esto significa que los avances tendrán que provenir de una intensificación sostenible que permita una gestión eficiente y responsable de los recursos naturales de tierra y agua (FAO, 2011). Esta demanda de producción de alimentos se ha podido cubrir hasta la actualidad gracias al uso masivo de fertilizantes, especialmente de N,P y K. Su producción implica casi el 70% de los gastos energéticos de producción en países en desarrollo y el 40% en países desarrollados (IDAE, 2007). En concreto, el nitrógeno tiene una dinámica compleja de asimilación y gran parte de este fertilizante nitrogenado aportado no se asimila por las plantas y acaba perdiéndose por lixiviado y escorrentía hacia aguas subterráneas (Silva et al., 2017). El uso incontrolado de fertilizantes ha provocado la eutrofización de las aguas en ecosistemas acuáticos y la pérdida de biodiversidad (García Miranda & Miranda González, 2018; Khan & Mohammad, 2014).

El principal objetivo de una agricultura sostenible es la reducción en el aporte de insumos, como son los fertilizantes nitrogenados, maximizando la producción de alimentos a nivel global, a través del adecuado manejo de los cultivos y genotipos eficientes en el uso y/o fijación del nitrógeno (Gallais y Coque, 2005). La fijación o pérdida de este compuesto (por lavado, desnitrificación y volatilización) depende de factores ambientales (viento, temperatura y humedad), edáficos (pH, materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico), de cultivo (manejo, residuos de cosecha), cantidad aportada y fuente de nitrógeno (Barbieri et al., 2010). El desarrollo de variedades con una elevada Eficiencia en el Uso del Nitrógeno (NUE) es una herramienta fundamental para reducir aportes de N y mitigar pérdidas, ya que menos de la mitad del nitrógeno aportado como fertilizante es absorbido por la planta (Ramos et al., 2002; García & González San Juan, 2016).

Los cultivos hortícolas de regadío son un importante foco en la utilización de abonos orgánicos y fertilizantes nitrogenados, como es el caso, por ejemplo, del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Ramos, 2005). Como la principal especie hortícola cultivada, se estima una producción a nivel mundial de 189.133 millones de toneladas y una superficie de 5 millones de hectáreas de cultivo en 2021 (FAO, 2021). La revolución verde desplazó las variedades tradicionales de este cultivo para dejar paso a híbridos y variedades comerciales mejoradas con unas características más homogéneas y con mayor rendimiento. Esto ha provocado un aumento en la erosión genética y la pérdida de variabilidad genética a lo largo del tiempo. Las prácticas de mejora se han enfocado a variedades de alta producción en condiciones con un elevado aporte de fertilizantes nitrogenados, por lo que las variedades actuales tienen baja NUE. Esto ha provocado también cultivos más vulnerables a enfermedades y cambios del medio (Maestre et al., 2008). Por ello, los programas de mejora genética de tomate incorporan variedades tradicionales y silvestres, que pueden aportar resistencias a enfermedades, y ser productivas en condiciones de déficit hídrico y de nitrógeno, al haber sido cultivadas anteriormente en estas condiciones limitantes (Alvarado, 2020). En este contexto, es de interés la búsqueda de genotipos de *S. lycopersicum* con variaciones genéticas relacionadas con la eficiencia en el uso del nitrógeno. Para ello, se plantea seleccionar aquellas con caracteres de interés en los procesos fisiológicos implicados para ser usadas en el desarrollo de líneas con un mayor rendimiento mediante técnicas de mejora genética o biotecnológica. Para el desarrollo de estos genotipos con elevada NUE es necesario conocer en detalle los procesos fisiológicos involucrados en el ciclo del nitrógeno en la planta.

1.2. Procesos fisiológicos involucrados en la eficiencia del uso de nitrógeno

1.2.1. La eficiencia del uso de nitrógeno y sus componentes

Entre las diferentes definiciones de la NUE, la propuesta de Moll *et al.* (1982) la describe como la cantidad de rendimiento producido por un cultivo por unidad de nitrógeno en el suelo (Kg de rendimiento/Kg de nitrógeno). Este parámetro se puede separar en dos componentes: la eficiencia de utilización de nitrógeno, es decir, la biomasa acumulada en el grano por unidad de nitrógeno conjunto de la planta; y la eficiencia de absorción de N que se define como el nitrógeno contenido en la planta por unidad de nitrógeno en el suelo. Esta definición, propuesta inicialmente para cereales, tiene problemas a la hora de comparar NUE entre diferentes cultivos, y asume factores erróneos, como que el nitrógeno del cultivo está disponible durante todo el período de desarrollo, desde la siembra hasta la cosecha (Weih et al., 2011). El componente de

absorción implica procesos fisiológicos que incluyen la captación de especies de nitrógeno y su transporte en la planta para su asimilación, mientras que el componente de utilización implica procesos de partición, almacenamiento y asignación del nitrógeno asimilado.

1.2.2. Procesos fisiológicos que influyen en la absorción y transporte de nitrógeno inorgánico.

La manera en la que el nitrógeno está disponible para el cultivo depende de procesos biológicos, edáficos, físicos y químicos. Las plantas absorben el N inorgánico principalmente como nitrato, amonio o urea, aunque la importación de aminoácidos y otros compuestos orgánicos de N por parte de las raíces también puede jugar un papel importante en determinadas condiciones (Näsholm et al., 2009; Tegeder & Rentsch, 2010; Bloom, 2015).

Los aminoácidos y el nitrato se transportarán a través del xilema hacia la parte aérea, dependiendo de la fuente de asimilación de nitrógeno (raíz u hoja). Pero, aunque el N inorgánico pueda incorporarse en forma de aminoácidos en las células de la raíz, en la mayoría de las especies el nitrato se dirige al xilema para ser transportado a la parte aérea para su posterior asimilación (Tegeder y Masclaux-Daubresse, 2018). Durante este transporte de la raíz a la parte aérea, parte del N tanto orgánico como inorgánico pueden almacenarse en vacuolas en raíz o en células del parénquima en el tallo. Estos procesos están regulados por transportadores de membrana, encargados de la captación, almacenamiento o exportación de especies de nitrógeno en las células (Tegeder, 2014). El movimiento del nitrato es controlado por transportadores de alta y de baja afinidad (familias NPF y NRT), el amonio por transportadores de la familia AMT y la urea por el transportador DUR3 y algunas aquaporinas. Los aminoácidos son captados por permeasas pertenecientes a diferentes familias (Yao et al., 2020).

1.2.3. Procesos implicados en la eficiencia en el uso del nitrógeno

1.2.3.1. Asimilación de nitrógeno

El nitrógeno inorgánico se transforma en orgánico debido a los procesos de fijación del nitrógeno molecular y la asimilación del nitrato. En forma molecular (N_2) solamente podrá ser fijada y absorbida directamente por ciertas plantas como las leguminosas.

El nitrato, especie mayoritaria absorbida por los cultivos, se almacena principalmente en las vacuolas, una vez ha sido absorbido por la raíz, puede o bien reducirse para ser asimilado por la raíz o ser conducido a la parte aérea de la planta y ser asimilado ahí. De la cantidad total absorbida por la planta, la distribución hacia raíz y hojas depende de factores externos e intrínsecos. Así si hay suficiente nitrato disponible para la planta, este es transportado principalmente al vástago en la mayor parte de especies (tallo u hojas), y si por el contrario la disponibilidad es baja, la proporción absorbida se reduce en la raíz (Azcón-Bieto & Talón, 2008)

Una vez el nitrato llega al interior del citoplasma, se activa el proceso de reducción a nitrito mediante la acción de la enzima nitrato-reductasa. El nitrito es llevado al cloroplasto, para reducirse a amonio por la enzima nitrito reductasa (Rodríguez, 2022). Este amonio es asimilado como aminoácidos (glutamina y glutamato) por las enzimas glutamina sintasa y glutamato sintetasa. Reacciones de transaminación permiten la síntesis de asparagina y aspartato, que

junto a glutamina y glutamato son los aminoácidos distribuidos para su uso por la planta a través del floema (Masclaux-Daubresse et al., 2010).

1.2.3.2. Partición de aminoácidos

Los aminoácidos son la especie de N empleada en la distribución y partición del nitrógeno entre fuentes y sumideros. El transporte de nitrógeno a frutos y semillas se relaciona con el transporte de estos compuestos dentro de la planta (Perchlik & Tegeder, 2017).

La partición del nitrógeno se basa en su transporte por vía floema desde las fuentes hasta su descarga en los sumideros. En la mayor parte de las especies se considera que la carga de aminoácidos en las fuentes se produce apoplásticamente. En algunos sumideros, la descarga se ha propuesto que sea simplástica, pero en sumideros como el fruto o las semillas también es mayoritariamente apoplástica (Dinkeloo et al., 2018). Por lo tanto, la distribución de aminoácidos en la planta está principalmente regulada por las permeasas específicas, y son dianas clave en la definición de la eficiencia del uso del nitrógeno. (Masclaux-Daubresse et al., 2010; Xu et al., 2012). Este transporte de fuente a sumidero permite la regulación entre la absorción de nitrógeno y la síntesis y asignación de aminoácidos (Perchlick & Tegeder, 2017).

1.3. Metabolismo de carbono: síntesis de fotoasimilados

La sacarosa y el almidón son los principales productos finales de la fotosíntesis. Para la síntesis de estos compuestos, se requieren las triosas fosfato generas por el ciclo de Calvin, que son transportadas desde el cloroplasto al citosol gracias al translocador de fosfato, en donde se origina una molécula de fructosa 6-fosfato catalizada por la fructosa bifosfatasa. Esta molécula mediante un proceso de síntesis mediado por diferentes enzimas es finalmente catalizada por la sacarosa fosfato sintasa para producir sacarosa (Stitt, 1990). El excedente de triosa fosfato que no se ha utilizado en la síntesis de sacarosa, se transforma en almidón, que será clave como sustancia de reserva de carbono. Su síntesis y almacenamiento tendrá lugar en el mismo cloroplasto para acumularse durante el día siendo movilizado, y exportado durante la noche. Así, los cloroplastos pueden proveer de carbono al resto de la planta cuando lo necesite. En resumen, los fotoasimilados procedentes de la fotosíntesis y asimilación del carbono se convierten en sacarosa, se transportan para su uso o se almacenan forma de almidón como reserva de energía para la planta (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

1.4. Relación del metabolismo de Carbono y Nitrógeno

La asimilación y absorción del nitrógeno está ligado al metabolismo del carbono, por lo que se define una relación carbono/nitrógeno presente en la planta. La asimilación de N necesita ATP, esqueletos carbonados y poder reductor. Este último y el ATP son generados en reacciones lumínicas de la fotosíntesis, por glucólisis y la respiración. Los esqueletos carbonados a partir de la reducción fotosintética del carbono, y por degradación de carbohidratos mediante glucólisis. Esta estrecha conexión entre ambos elementos sugiere una co-regulación de ambos metabolismos (Vance & Griffith, 1997).

La síntesis de la glutamina y la asparagina, relacionados ambos con la asimilación, transporte y almacenamiento del nitrógeno, requiere de esqueletos carbonados. Siendo la asparagina una molécula con un menor número de átomos de carbono y en consecuencia más eficiente para el transporte y almacenamiento de nitrógeno en cuanto al consumo de carbono (Ireland & Pea, 1999).

La asimilación de nitrógeno requiere un aporte de carbohidratos que formarán parte de la molécula de aminoácidos. Cuando la fotosíntesis es baja, el almidón es la principal fuente de carbono empleada para la asimilación de N. Sin embargo, en condiciones de alta irradiancia, los azúcares productos de la fijación fotosintética se utilizan como última fuente de esqueletos carbonados para poder sintetizar aminoácidos. De manera que, en los tejidos fotosintéticos, el carbono asimilado por la planta se distribuye entre la producción de carbohidratos y la síntesis de aminoácidos. La repartición del carbono entre ambos destinos se regula mediante las enzimas correspondientes a esas rutas, dependientes de la luz y la disponibilidad de carbono y nitrógeno. Por lo que en condiciones lumínicas adecuadas o cuando se disponga de carbono suficiente (nivel alto C/N), se verá favorecida la ruta de producción de glutamina; mientras que en condiciones de oscuridad que ocasionan niveles bajos de disponibilidad de carbono (limitado), se producirá asparagina (Foyer & Noctor, 2006).

Finalmente, el nitrato también está conectado con el carbono, favoreciendo el movimiento de carbono hacia la biosíntesis de aminoácidos. Esta regulación entre ambos elementos (C y N) concede a la planta la posibilidad de coordinar los procesos de biosíntesis tanto de carbohidratos como de aminoácidos con el objetivo de conservar un balance interno de C/N conveniente (Coruzzi & Zhou, 2001).

1.5. Eficiencia en el uso de N (NUE) en tomate

La variación de la eficiencia en el uso del nitrógeno en el cultivo del tomate, y los factores que intervienen y la regulan, no han sido estudiados en profundidad. Hay cultivares que difieren en su NUE según el método de cultivo utilizado, debido a cambios fenotípicos que alteran la medición. Abenaboli et al (2016), compararon la producción de biomasa de diferentes cultivares de tomate. Los cultivares que presentaron distinta NUE difirieron en una serie de procesos fisiológicos entre los anteriormente comentados (Abenavoli et al., 2016). Se identificaron diferencias en la expresión y actividad de transportadores de nitrato que afectan a la capacidad de las plantas para obtener y utilizar el nitrógeno; cambios en la morfología de las raíces que ocasiona una mayor o menor captación de nitrógeno del suelo según su longitud y densidad; la acumulación y utilización de nitrato en los diferentes tejidos; y por último la interacción genotipo/ambiente, en donde las condiciones de cultivo pueden afectar a la respuesta del genotipo (Abenavoli et al., 2016).

Más recientemente, Rosa-Martínez et al. (2021) estudiaron la variación en la calidad del fruto en una colección de tomate de colgar. Los autores describieron diferencias en los efectos del aporte de N sobre el contenido en compuestos relacionados con la calidad organoléptica del fruto y su producción, sugiriendo el potencial de estas variedades para la mejora del tomate en condiciones de bajo aporte de N. En otro estudio metabólico y transcriptómico, realizado en el cultivar Moneymaker de tomate se identificaron procesos específicos del metabolismo, transporte y movilización de C/N implicados en las respuestas a la disponibilidad de N.

Aunque estos trabajos proponen posibles alelos y dianas de interés en la mejora de la NUE en tomate, más trabajos son necesarios para caracterizar en detalle los procesos fisiológicos clave

asociados a una NUE elevada en condiciones de aporte limitado de N. En este estudio, se evaluarán diferentes accesiones con respecto a su distribución de carbohidratos y aminoácidos y la relación C/N en plantas de tomate en respuesta al aporte de nitrógeno y su efecto sobre la producción del cultivo.

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo ha sido estudiar la variación de la partición de carbohidratos y aminoácidos entre genotipos de tomate y especies relacionadas, que han mostrado en estudios previos diferencias en la eficiencia en el uso de N, tanto en condiciones óptimas de fertilización nitrogenada como en condiciones de deficiencia de N. Este análisis permitirá establecer si existen diferentes estrategias para la respuesta a la limitación de N y su relación con la producción.

Para desarrollar este objetivo general, se han propuesto los siguientes objetivos parciales:

1. Determinación de la variabilidad entre accesiones de tomate con NUE contrastante de la partición de C y su respuesta a la disponibilidad de N. Para ello se han realizado medidas de carbohidratos metabolizables y C elemental en hojas, tallos y raíces.
2. Determinación de la partición de N en accesiones de tomate en respuesta a los niveles de aporte de N. Para ello se han realizado medidas de aminoácidos totales y N elemental en hojas, tallos y raíces.
3. Relación de los resultados obtenidos con la producción de fruto, e identificación de distintas estrategias de respuesta a la limitación de N

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

En este estudio, se ha trabajado con cinco accesiones de tomate (*S. lycopersicum* L.): cagón de Canarias (Ac32), Muchamiel (Ac35), Cuarenteno (Ac70), pequeño de colgar (Ac82) y Moneymaker (MM), que en estudios previos del laboratorio han mostrado diferencias en la producción de cosecha, y en la eficiencia en el uso del nitrógeno (NUE). Además, se ha incluido la accesión To-937 de *S. pimpinellifolium*; L. (Pi), como ancestro silvestre más cercano al tomate cultivado. Todos los genotipos han sido cedidos por el banco de germoplasma del COMAV de la UPV.

3.2 Condiciones de cultivo y fertilización

Las semillas se esterilizaron con lejía al 20% de hipoclorito sódico, durante 5 minutos, y se lavaron con agua destilada. Una vez germinadas en placas Petri con papel de filtro humedecido, las plántulas se transfirieron a semilleros con base de sustrato y se fertilizaron con solución Hoagland y Arnon (1950). Posteriormente, se trasplantaron a macetas rellenas de arcilla expandida (Arlita, España), cultivándose en condiciones de invernadero. Se emplearon 6 plantas por cada genotipo y condición. Las plantas se distribuyeron en bloques al azar en el invernadero.

Las plantas cultivadas se sometieron a dos niveles diferentes de fertilización nitrogenada, empleando una solución Hoagland y Arnon (1950). Basado en resultados previos (Renau-Morata et al., 2021), la formulación con 8mM de nitrógeno total sirvió como aporte suficiente (N100), mientras que la solución con 4 mM N se empleó como dosis limitante de nitrógeno (N50). El aporte del resto de elementos minerales esenciales se mantuvo en cantidades similares. Se alternaron riegos de agua y solución nutritiva correspondiente durante el día, y el tiempo necesario de riego para cubrir las demandas de la planta. La fertilización diferencial se inició a los 7 días del trasplante a maceta en invernadero.

El cultivo se mantuvo hasta el desarrollo del cuarto racimo de fruto (140 días desde el inicio de la fertilización diferencial). Se llevó a cabo un manejo estándar del cultivo (eliminación de axilares, tratamientos de plagas, etc.). Durante el periodo reproductivo, se recolectaron regularmente los frutos rojos maduros, para determinar la producción total por planta.

3.3 Muestro y procesado del material vegetal

Al final del experimento se determinó la biomasa (peso fresco y peso seco) de los diferentes órganos de la planta. Para obtener el peso seco, se llevó el material a una estufa a 70°C durante un mínimo de 72 h.

Las muestras secas y deshidratadas procedentes de los diferentes órganos (raíz, tallo y hoja), se procesaron en 3 réplicas de 2 plantas cada una, y se trituraron en un molino de aspas (Pulverisette 5, Fritsch, Alemania).

3.4 Determinación de carbohidratos totales

Para la determinación de los carbohidratos metabolizables, tanto azúcares solubles como almidón, se siguió el procedimiento colorimétrico propuesto por Ruiz y Guardiola (1994) con modificaciones. Para la extracción se empleó 10 mg de muestra seca y triturada a la que se añadió 0,8 mL de 80% etanol en tubos Eppendorf de 2 mL, que se llevaron a 100°C en un baño de agua, durante 10 minutos. Posteriormente, se centrifugaron los tubos a 12000rpm durante 10 minutos y se extrajo el sobrenadante. El proceso de extracción se repitió dos veces más, pero con 0,5 mL de etanol al 80%. Los tres extractos procedentes del sobrenadante, que contienen los azúcares solubles de la muestra, se juntaron y se secaron a 60°C durante 2 horas aproximadamente, en un concentrador de vacío (Speedvac, Eppendorf, Alemania). El residuo seco de los sobrenadantes se resuspendió en 10 mL de agua destilada. El tejido remanente se trató con 1.8 mL de 35% ácido perclórico durante 24 h para hidrolizar el almidón a azúcares solubles. Finalmente se enrasó el volumen a 10 mL con agua destilada.

El contenido de ambas fracciones de carbohidratos, tanto almidón como azúcares solubles, fueron cuantificados por el procedimiento de antrona-sulfúrico (McCready y col, 1950). Se emplearon 0,25 mL de la muestra correspondiente y se le añadió 2,25 mL de agua destilada y finalmente 5 mL de antrona (0,200 g de antrona en 100 mL de 96% ácido sulfúrico) en tubos de vidrio con tapón de rosca. Los tubos se introducen en un baño de agua a 100°C durante 7.5 min, tras lo cual se introducen en un baño de agua fría para llevar a temperatura ambiente y parar la reacción. A continuación, se midió la absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6300, Reino Unido). Para cuantificar el contenido en carbohidratos, se procesaron de la misma forma soluciones de glucosa de concentración conocida. En el cálculo del contenido en almidón, se multiplicó la cantidad obtenida por 0.9 para tener en cuenta la pérdida de agua por la formación de los enlaces. Los valores determinados se expresaron como microgramos de azúcares totales o almidón por mg de tejido seco.

3.5 Cuantificación de carbono y nitrógeno en porcentaje

El contenido total de C y N elementales fue cuantificado por el Servicio de Análisis de Nitrógeno y Carbono del Instituto de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal-Estación Experimental del Zaidín (EEZ) con un analizador elemental de C/N Leco TruSpec.

3.6 Determinación de aminoácidos totales

Para la cuantificación del contenido de α -aminoácidos totales y prolina, se empleó el método de Moore y Stein (1954), modificado por Legget-Bailey (1967). Se usó 1 mL del extracto obtenido para la determinación de azúcares solubles, al que se añadió 0.5 mL de reactivo de ninhidrina (20 g de ninhidrina y 3 g de hidridantina disueltos en 750 mL de metilcelulosa más 250 mL de tampón de acetato 4N con pH 5.5). Se calentaron los tubos a 100°C durante 15 minutos, tras lo cual, se enfriaron a temperatura en un baño con agua, y se midió la absorbancia a 570 nm y 440 nm con el espectrofotómetro (Jenway, Reino Unido).

El contenido en prolina y α -aminoácidos totales se calculó mediante las ecuaciones:

$$X_{570} = 2,676 A + 0,227 B$$

$$X_{440} = 0,574 A + 0,763 B$$

Donde la variable X es la correspondiente a la absorbancia dada en el espectrofotómetro para cada una de las longitudes de onda, A son los micromoles de α -aminoácidos contenidos en la muestra y B son los micromoles de prolina. Los valores se presentaron como μmol de prolina o α -aminoácidos por mg de peso seco.

3.7 Análisis estadístico

En todas las determinaciones analíticas se emplearon 3 réplicas biológicas por cada genotipo, órgano, y nivel de aporte de nitrógeno ($n = 3 \times 6 \times 3 \times 2$). Los datos del ensayo fueron analizados usando el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVIII (Statgraphics). Para determinar la significación estadística de las diferencias entre accesiones de los parámetros determinados, nivel de fertilización y órganos, se llevaron a cabo análisis factoriales y simples de varianza (ANOVA). Para analizar la relación lineal entre parámetros, se realizaron análisis de regresión lineal. También se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para observar una agrupación de genotipos con ciertos patrones de comportamiento comunes, en relación con los parámetros obtenidos en el trabajo.

4. RESULTADOS

Con objeto de estudiar la variación en la partición de fotoasimilados en respuesta a la deficiencia de N, se ha analizado el contenido en azúcares solubles, almidón, aminoácidos, y el contenido en N y C elemental, en los diferentes órganos de las variedades estudiadas, tanto en condiciones de fertilización nitrogenada óptima como en condiciones de deficiencia de N.

4.1. Variabilidad entre accesiones del contenido en azúcares solubles y almidón en los distintos órganos

El contenido en azúcares solubles muestra una gran variabilidad entre accesiones y en su distribución entre los distintos órganos (Tablas 1-3). Así, el nivel de azúcares solubles en hoja (Tabla 1) es significativamente inferior en MM y en Pi, y muestra niveles más elevados en las accesiones Ac82, Ac70 y Ac32. Las accesiones con un menor contenido de azúcares solubles en hoja, son aquellas que muestran el mayor contenido en raíz (Tabla 2). En el tallo, también se observa variación entre accesiones en este parámetro, siendo las accesiones Ac32, Ac35 y Ac70 las que tienen un mayor valor. Se encuentran diferencias en el contenido de azúcares entre órganos, en todas las accesiones estudiadas, con la excepción de Ac70 y Ac82. Los genotipos MM y Pi acumulan mayor cantidad de azúcares en raíz y menor en hoja. La Ac32 y Ac35 presentan valores mayores en tallo y menores en raíz y hoja respectivamente (Figura 1).

Tabla 1. Contenido en azúcares solubles y almidón en hoja de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi), y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Hoja Genotipo	Azúcares solubles		Almidón	
	N100	N50	N100	N50
Ac32	39,08 a	40,17 c	51,42 a B	181,72 a A
Ac35	27,10 ab B	72,01 b A	12,93 b B	54,98 b A
Ac70	40,80 a B	106,30 a A	15,16 b	16,28 b
Ac82	41,74 a B	52,05 bc A	22,44 b B	30,03 b A
MM	12,18 b A	7,05 d B	17,26 b A	10,58 b B
Pi	23,89 ab	24,26 cd	17,44 b A	9,89 d B

Diferentes letras en minúscula muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos con el mismo tratamiento de fertilización nitrogenada. Distintas letras en mayúscula indican las diferencias significativas entre tratamientos para un mismo genotipo

Tabla 2. Contenido en azúcares solubles y almidón en raíz de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi), y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Raíz	Azúcares solubles		Almidón	
	N100	N50	N100	N50
Ac32	35,45 d	76,90 bc	62,91 a A	51,17 bc B
Ac35	46,05 cd	28,90 c	32,36 b B	90,08 ab A
Ac70	36,84 d	45,32 bc	19,98 b B	31,87 c A
Ac82	76,08 bc	69,41 bc	24,96 b B	121,44 a A
MM	180,67 a	121,19 a	50,53 b B	92,34 ab A
Pi	91,50 b	52,44 bc	65,16 a	62,43 bc

Diferentes letras en minúscula muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos con el mismo tratamiento de fertilización nitrogenada. Distintas letras en mayúscula indican las diferencias significativas entre tratamientos para un mismo genotipo

Tabla 3. Contenido en azúcares solubles y almidón en tallo de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi), y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Tallo	Azúcares solubles		Almidón	
	N100	N50	N100	N50
Ac32	109,86 a	54,32 b	31,07 a	89,77 a
Ac35	64,15 abc	60,91 b	12,79 ab	14,97 b
Ac70	69,50 ab	145,54 a	26,15 ab	16,29 b
Ac82	57,30 abc	60,73 b	6,46 b	11,36 b
MM	12,36 c A	3,76 b B	15,62 ab	25,04 b
Pi	28,78 bc	12,55 b	12,69 ab	14,44 b

Diferentes letras en minúscula muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos con el mismo tratamiento de fertilización nitrogenada. Distintas letras en mayúscula indican las diferencias significativas entre tratamientos para un mismo genotipo

El contenido en almidón muestra también diferencias entre accesiones y órganos. La accesión Ac32 muestra en todos los órganos un elevado contenido en almidón que, en casi todos los genotipos, es superior en la raíz, destacando las accesiones Ac32 y Pi como aquellas con un mayor nivel. Las accesiones Ac70 y Ac82 no muestran valores elevados de este parámetro en ningún órgano (Tablas 1-3). En todas las accesiones se acumula mayor contenido de almidón en raíces y menor en tallo, a diferencia de Ac32 y Ac70 que no presentan diferencias significativas (Figura 2).

4.2. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en carbohidratos. Variabilidad entre accesiones

El efecto del descenso en el aporte de N sobre el contenido en carbohidratos de los distintos órganos varía entre accesiones (Tablas 1-3). Las accesiones Ac32, Ac82, MM y Pi mantienen su contenido en azúcares solubles en hoja (Tabla 1) y, con excepción de la Ac32 tampoco aumenta en los restantes órganos (Tablas 2 y 3). Más bien, se observa cierta disminución en la raíz de MM y Pi. Sin embargo, el genotipo Ac32 sí que muestra un incremento en los azúcares solubles en raíz al disminuir el aporte nitrogenado (Tabla 2). En las accesiones Ac35 y Ac70, se observa un

incremento muy significativo del contenido de azúcares solubles en hoja, bajo condiciones de deficiencia de N (Tabla 1). El valor de este parámetro en el tallo de la accesión Ac70 es también muy elevado (Tabla 3). La diferencia en el aporte de nitrógeno modifica la acumulación de azúcares en los diferentes órganos. Las accesiones MM y Pi mantienen la raíz como principal almacenador, pero es ahora el tallo el que menor cantidad de este compuesto almacena. La Ac35 y Ac70 acumulan más azúcares en hoja y tallo respectivamente, y es la raíz la que menos azúcares acumula (Figura 1). La Ac32 y Ac82 no presentan diferencias significativas (Figura 1).

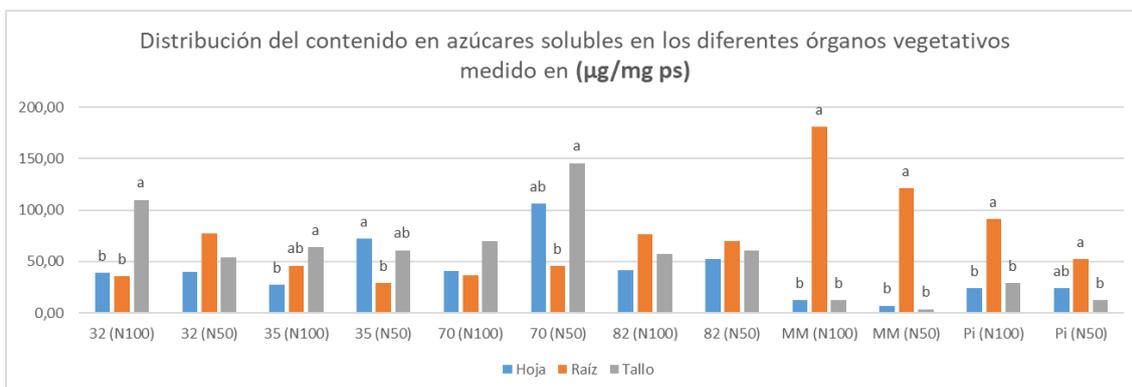


Figura 1. Contenido en azúcares solubles en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo), para cada uno de los genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada (N100 y N50). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes órganos de un mismo genotipo y tratamiento. La ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre órganos para dicho genotipo.

En los genotipos Ac35, Ac70, Ac82 y MM, la disminución del aporte de N provoca un incremento del contenido de almidón en la raíz que, con la excepción de Ac 35, no varía en los restantes órganos (Tablas 1-3). En el genotipo Ac35, también se acumula almidón en hoja, en estas condiciones de cultivo. La accesión Ac32 no acumula una mayor cantidad de almidón en raíz en condiciones deficitarias de N, pero sí que incrementa notablemente el nivel de este carbohidrato en hoja y tallo (Tablas 1 y 3). Es de destacar que en la especie silvestre la variación en el aporte de N no tiene ningún efecto sobre el contenido de almidón en ninguno de los órganos (Tabla 1-3 y Figura 2).

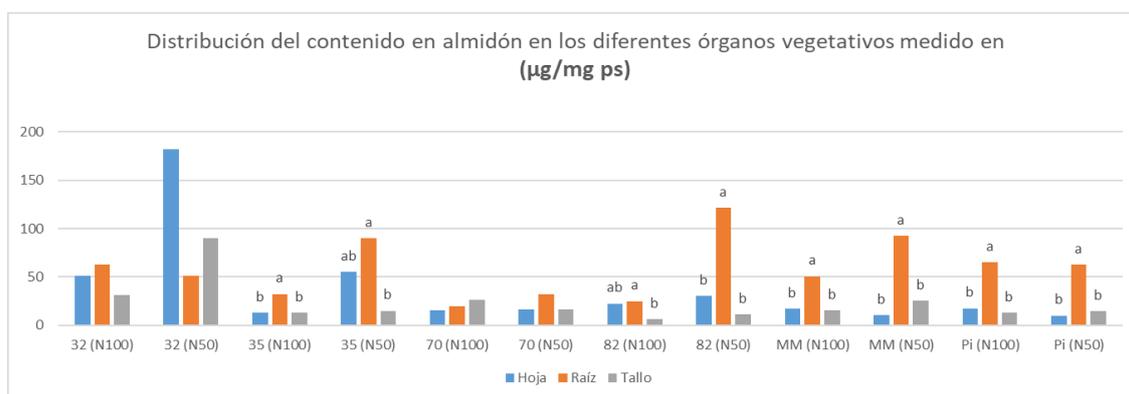


Figura 2. Contenido en almidón en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo), para cada uno de los genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada (N100 y N50). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes órganos de un mismo genotipo y tratamiento. La ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre órganos para dicho genotipo.

4.3. Variabilidad entre accesiones del contenido en aminoácidos en los distintos órganos

El contenido en aminoácidos no presenta diferencias significativas entre accesiones ni en hoja, ni en raíz. Sólo el tallo de la accesión Pi muestra un contenido inferior al de las restantes variedades (Tabla 4). El contenido en aminoácidos es significativamente mayor en tallo que en los restantes órganos en todas las accesiones de tomate ensayadas (excepto en Pi). Y la raíz presenta los valores más bajos de estos compuestos (Figura 3). Sin embargo, en la especie silvestre los valores más elevados para el contenido en aminoácidos se dan en hoja (Figura 3).

Tabla 4. Contenido en aminoácidos ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de peso seco) en los diferentes órganos (hoja, raíz y tallo) de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi), y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Hoja	AA		Raíz	AA		Tallo	AA	
	N100	N50		N100	N50		N100	N50
Ac32	0,07 a	0,11 ab	Ac32	0,05 a A	0,03 a B	Ac32	0,09 ab A	0,06 a B
Ac35	0,08 a	0,08 b	Ac35	0,03 a A	0,02 a B	Ac35	0,11 ab A	0,05 a B
Ac70	0,08 a	0,08 b	Ac70	0,05 a A	0,03 a B	Ac70	0,13 a A	0,04 a B
Ac82	0,08 a	0,06 b	Ac82	0,03 a A	0,02 a B	Ac82	0,10 ab A	0,08 a B
MM	0,07 a	0,07 b	MM	0,04 a A	0,01 a B	MM	0,08 ab A	0,05 a B
Pi	0,07 a	0,18 a	Pi	0,02 a A	0,02 a B	Pi	0,05 b	0,06 a

Diferentes letras minúsculas muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos bajo el mismo tratamiento. Distintas letras en mayúscula indican las diferencias significativas entre tratamientos de un mismo genotipo.

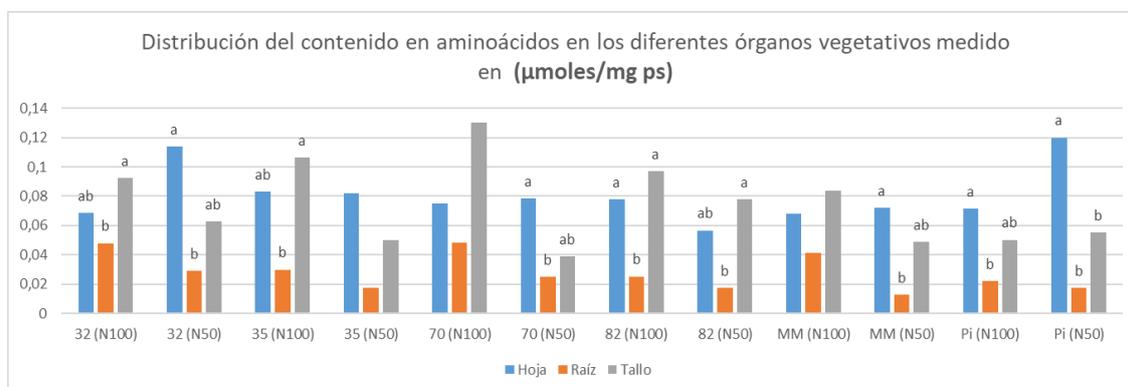


Figura 3. Contenido en aminoácidos ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ peso seco) en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo), para cada uno de los genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada (N100 y N50). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes órganos de un mismo genotipo y tratamiento. La ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre órganos para dicho genotipo.

4.4 Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en aminoácidos. Variabilidad entre accesiones.

La disminución en el aporte de N provoca una caída del contenido en aminoácidos en el tallo y en la raíz en todas las accesiones de tomate. No obstante, el contenido en hoja no se ve significativamente afectado. En la accesión de tomate silvestre, sólo hay un descenso del contenido de aminoácidos en raíz (Tabla 4). Al reducir la fertilización nitrogenada, desaparecen

las diferencias entre variedades observadas en el tallo, y tampoco se observan en raíz. No obstante, aparecen diferencias en el contenido en aminoácidos en la hoja entre accesiones, destacando los genotipos Pi y Ac32 por su mayor contenido (Tabla 4). Todas las accesiones acumulan, en condiciones de menor fertilización nitrogenada, valores mayores de aminoácidos en hoja, salvo Ac82 que lo hace en tallo. Y la raíz sigue siendo el órgano en donde menos se acumula este componente (Figura 3).

4.5. Variabilidad entre accesiones del porcentaje de carbono en los distintos órganos

En la hoja, no se observan diferencias genotípicas en el porcentaje de C. En la raíz, sólo la accesión MM presenta un menor %C. En el tallo la Ac70 y MM muestran valores significativamente más bajos (Tabla 5). Las restantes accesiones no presentan diferencias significativas entre ellas. Para todas las accesiones estudiadas, con la excepción de MM, la hoja es el órgano con un menor contenido en %C y la raíz es el que muestra valores más elevados de este parámetro. En la accesión MM no se observan diferencias significativas en el %C entre órganos (Figura 4).

Tabla 5. %C en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo) de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Hoja Genotipo	%C		Raíz Genotipo	%C		Tallo Genotipo	%C	
	N100	N50		N100	N50		N100	N50
Ac32	28,437 a	28,230 ab	32	40,930 ab	40,890 a	32	38,930 ab	39,150 a
Ac35	30,457 a	29,860 a	35	41,390 a	41,450 a	35	39,750 ab	39,410 a
Ac70	27,225 a	26,230 b	70	39,790 ab	38,770 a	70	37,350 c	36,650 c
Ac82	31,147 a	29,960 a	82	40,467 ab	41,070 a	82	40,130 a	39,280 a
MM	29,450 a	27,120 b	MM	36,270 b	29,680 b	MM	38,170 bc	37,120 bc
Pi	30,320 a	30,090 a	Pi	39,707 ab	40,840 a	Pi	39,220 ab	38,530 ab

Diferentes letras en minúscula indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos bajo el mismo tratamiento.

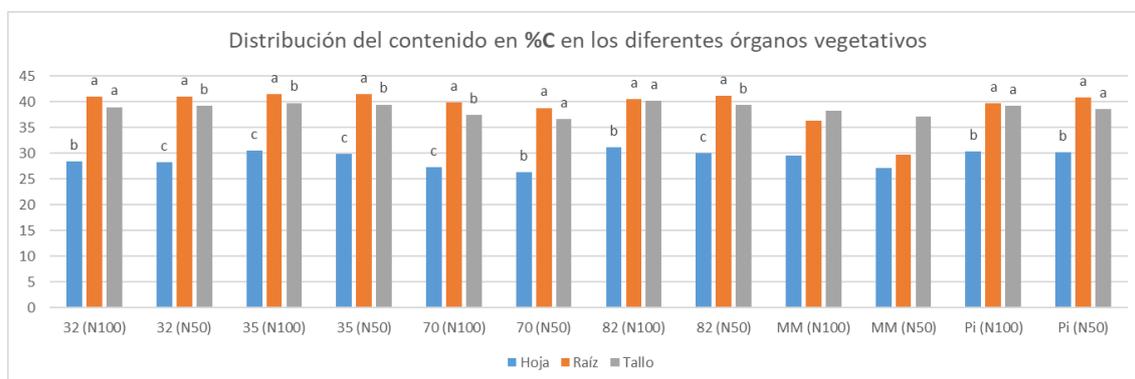


Figura 4. Contenido en %C en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo), para cada uno de los genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada (N100 y N50). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes órganos de un mismo genotipo y tratamiento. La ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre órganos para dicho genotipo.

4.6. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en %C. Variabilidad entre accesiones

El menor aporte de N no cambia el %C en ninguna de las variedades y órganos estudiados. En raíz y tallo, se mantienen las diferencias genotípicas observadas (Tabla 5). Sin embargo, en la hoja, la disminución de la fertilización nitrogenada incrementa ligeramente la diferencia entre MM y los restantes genotipos, de forma que esta accesión muestra valores más bajos y similares a la accesión Ac70 (Tabla 5). En las accesiones 32 y 82, aparecen ligeras diferencias entre tallo y raíz que no aparecían en condiciones de aporte óptimo de N.

4.7. Variabilidad entre accesiones del porcentaje de nitrógeno en los distintos órganos

En condiciones de aporte de N óptimas, no existen diferencias genotípicas en el porcentaje de N en raíz, pero sí que se observan en la hoja y en el tallo. El genotipo Pi es el que muestra un mayor porcentaje de N en hoja y menor en tallo (Tabla 6). Todas las accesiones tienen un menor contenido de nitrógeno en tallo, siendo la hoja, el órgano de mayor acumulación. En la Ac32 no existen diferencias significativas entre la hoja y la raíz (Figura 5).

Tabla 6. % N en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo) de los distintos genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50).

Hoja Genotipo	%N		Raíz Genotipo	%N		Tallo Genotipo	%N	
	N100	N50		N100	N50		N100	N50
Ac32	2,07 c	2,17 ab	32	2,08 a A	1,53 a B	32	1,12 ab A	0,87 ab B
Ac35	2,62 ab	2,13 ab	35	1,80 a A	1,53 a B	35	1,35 ab A	0,88 ab B
Ac70	2,30 bc	2,40 ab	70	2,12 a A	1,56 a B	70	1,46 ab A	0,99 ab B
Ac82	2,41 abc	2,00 ab	82	1,73 a A	1,59 a B	82	1,24 ab A	1,08 a B
MM	2,20 bc	1,94 b	MM	1,88 a A	1,32 a B	MM	1,55 a A	1,02 ab B
Pi	2,84 a	2,80 a	Pi	1,66 a A	1,59 a B	Pi	1,00 b A	0,79 b B

Diferentes letras minúsculas muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos genotipos bajo el mismo tratamiento. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo genotipo.

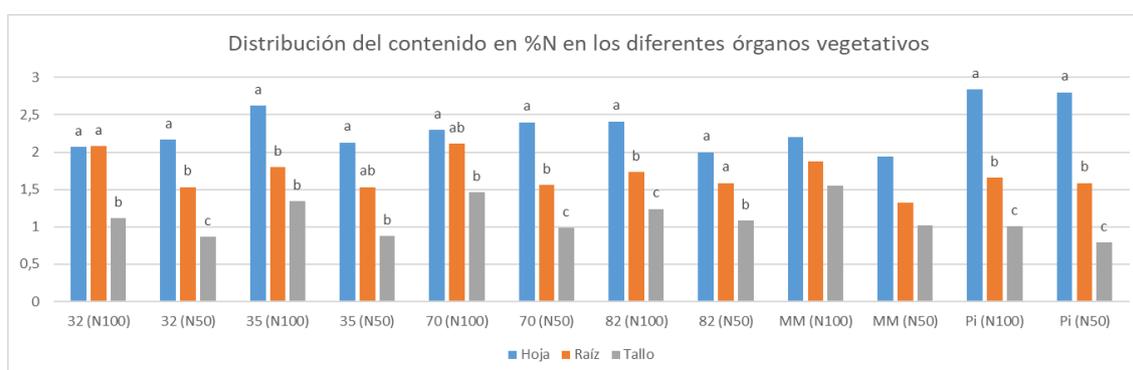


Figura 5. Contenido en %N en los diferentes órganos vegetativos (hoja, raíz y tallo), para cada uno de los genotipos ensayados (Ac32, Ac35, Ac70, Ac82, MM y Pi) y en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada (N100 y N50). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes órganos de un mismo genotipo y tratamiento. La ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre órganos para dicho genotipo.

4.8. Efecto de la disminución en el aporte de N en el contenido en %N. Variabilidad entre accesiones

La reducción en el aporte de nitrógeno produce una bajada del contenido de nitrógeno en raíz y tallo, en todas las accesiones. A pesar de esta bajada, las diferencias entre accesiones se mantienen como en el tratamiento de fertilización óptima. Sin embargo, en la hoja no desciende significativamente el porcentaje de N en ninguna accesión. (Tabla 6). El genotipo Pi sigue siendo la de mayor %N en hoja, y MM pasa a ser la de menor contenido. La reducción del aporte de N no modifica las diferencias entre órganos del %N, en una variedad dada. En todas ellas, la hoja es el órgano con un mayor %N y el tallo el que presenta un menor porcentaje (Figura 5).

4.9 Correlaciones a nivel de accesión entre el contenido en C y N y el peso seco

Las variedades con mayor peso seco total, en condiciones no limitantes de N, son aquellas que también presentan un mayor valor de este carácter con un aporte de N al 50%. Se presenta una relación similar para el peso seco vegetativo y el peso seco del fruto (Tabla 7).

En condiciones óptimas de N, existe una correlación positiva entre el peso seco total y el peso seco de la parte vegetativa, y no existe correlación con el peso seco del fruto. Al bajar la fertilización nitrogenada, se mantienen estas relaciones (Tabla 7). Asimismo, las variedades con un mayor peso seco total no son aquellas con un mayor % de C en tallo, hoja o raíz en ninguna de las condiciones ensayadas. El contenido en C en tallo de una variedad está positivamente correlacionado con su contenido en hoja, y no se presenta relación entre el %C en tallo u hoja y para la raíz, en ninguno de los tratamientos ensayados (Tablas 8 y 9).

Tabla 7. Correlaciones entre los pesos secos: vegetativo (veg), fruto (fr) y total (tot), en cada una de las condiciones de cultivo (N100 y N50)

PS veg N100		0,86	ns	ns	0,93	0,94
Ps veg N50	0,86		-0,84	ns	ns	0,86
PS fr N100	ns	-0,84		0,94	ns	ns
PS fr N50	ns	ns	0,94		ns	ns
PS tot N100	0,93	ns	ns	ns		0,88
PS tot N50	0,94	0,86	ns	ns	0,88	
	PS veg N100	PS veg N50	PS fr N100	PS fr N50	PS tot N100	PS tot N50

Solamente se señalan las correlaciones estadísticamente significativas (p-valor < 0,005)

Tabla 8. Correlaciones entre %C, N% y pesos secos de los diferentes órganos :hoja (H), raíz (R) y tallo (T), en tratamiento de fertilización nitrogenada óptima (N100).

%C H N100		ns	0,89	ns	-0,92	ns	ns	ns	ns
%C R N100	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
%C T N100	0,89	ns		ns	ns	ns	0,89	ns	ns
%N H N100	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns
%N R N100	-0,92	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns
%N T N100	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns
PS veg N100	ns	ns	0,89	ns	ns	ns		ns	0,93
PS fr N100	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns
PS tot N100	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,93	ns	
	%C H N100	%C R N100	%C T N100	%N H N100	%N R N100	%N T N100	PS veg N100	PS fr N100	PS tot N100

Solamente se señalan las correlaciones estadísticamente significativas (p-valor < 0,005)

Tabla 9. Correlaciones entre %C, N% y pesos secos de los diferentes órganos :hoja (H), raíz (R) y tallo (T), en tratamiento de fertilización nitrogenada limitante (N50).

%C H N50		ns	0,86	ns	ns	ns	0,89	ns	ns
%C R N50	ns		ns	ns	0,94	ns	ns	ns	ns
%C T N50	0,86	ns		ns	ns	ns	0,88	ns	ns
%N H N50	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns
%N R N50	ns	0,94	ns	ns		ns	ns	ns	ns
%N T N50	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns
PS veg N50	0,89	ns	0,88	ns	ns	ns		ns	0,86
PS fr N50	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns
PS tot N50	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,86	ns	
	%C H N50	%C R N50	%C T N50	%N H N50	%N R N50	%N T N50	PS veg N50	PS fr N50	PS tot N50

Solamente se señalan las correlaciones estadísticamente significativas (p-valor < 0,005)

El porcentaje de N en los distintos órganos no muestra una correlación positiva con los pesos secos, en ninguna de las condiciones de aporte de N ensayadas (Tablas 8 y 9). Se observa que tampoco existe una correlación a nivel de variedad entre el contenido de N en los distintos órganos, sea cual sea la fertilización nitrogenada (Tablas 8 y 9). Sin embargo, existe una correlación negativa entre el contenido de N en raíz y el contenido de C en hoja en condiciones no limitantes de N (Tabla 8). Cuando se reduce el aporte de N, se observa una correlación positiva entre el contenido de C y N en raíz (Tabla 9).

4.10 Correlaciones a nivel de accesión entre azúcares solubles, almidón, aminoácidos, y los pesos secos

En relación al contenido de azúcares solubles, hay que señalar que, en condiciones no limitantes de N, aquellas variedades con un mayor contenido de azúcares en tallo u hoja son aquellas que experimentan un menor contenido de azúcares en la raíz (Tabla 10). Al disminuir el aporte de N, no se mantiene esta relación y aparece una correlación positiva entre el contenido de azúcares en tallo y hoja (Tabla 11).

Atendiendo al contenido de almidón, hay que señalar que aquellas variedades que almacenan más almidón en hoja, en condiciones de aporte suficiente de N, son también aquellas que lo hacen bajo condiciones limitantes (Tablas 10 y 11). En estas condiciones, hay una correlación positiva entre el almacenamiento de almidón en hoja y tallo (Tabla 11).

El contenido en aminoácidos totales (AA), en un cierto órgano, no está relacionado, a nivel de genotipo, con el contenido en los demás órganos, en ninguna de las condiciones ensayadas. (Tablas 10 y 11).

Es interesante señalar que, en condiciones óptimas de fertilización, el contenido de AA en tallo está negativamente correlacionado con el contenido de almidón en raíz (-0,81). Sin embargo, aquellas variedades con un mayor contenido de AA en raíz son aquellas con mayor contenido de almidón en tallo (0,88) (Tabla10).

En condiciones no limitantes de nitrógeno, las variedades con mayor contenido en almidón en raíz tienen menor valor de peso seco de fruto (-0,62) (Tabla 10). Cuando se cambia de tratamiento a déficit de nitrógeno, se dan correlaciones positivas entre el contenido de azúcares en tallo y el peso seco de fruto y entre el almidón en raíz y el peso seco total (Tabla 11).

Tabla 10. Correlaciones entre contenido en azúcares (AZ), almidón (AL), aminoácidos (AA) y pesos secos: vegetativo (veg), fruto (fr) y total (tot), de los diferentes órganos vegetativos: hoja (H), raíz (R) y tallo (T), en tratamiento de fertilización nitroaenada óptima (N100).

AZ H	N100		-0,82	ns	ns								
AZ R	N100	-0,82		-0,85	ns	ns							
AZ T	N100	ns	-0,85		ns	ns							
AL H	N100	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
AL R	N100	ns	ns	ns	ns		ns	ns	-0,81	ns	-0,62	ns	
AL T	N100	ns	ns	ns	ns	ns		0,88	ns	ns	ns	ns	
AA H	N100	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	
AA R	N100	ns	ns	ns	ns	ns	0,88	ns		ns	ns	ns	
AA T	N100	ns	ns	ns	ns	-0,81	ns	ns	ns		ns	ns	
		AZ H N100	AZ R N100	AZ T N100	AL H N100	AL R N100	AL T N100	AA H N100	AA R N100	AA T N100	PS veg N100	PS fr N100	PS tot N100

Solamente se señalan las correlaciones estadísticamente significativas (p-valor < 0,005)

Tabla 11. Correlaciones entre contenido en azúcares (AZ), almidón (AL), aminoácidos (AA) y pesos secos: vegetativo (veg), fruto (fr) y total (tot), de los diferentes órganos vegetativos: hoja (H), raíz (R) y tallo (T), en tratamiento de fertilización nitrogenada limitante (N50).

AZ H N50		ns	0,96	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AZ R N50	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AZ T N50	0,96	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,76	ns
AL H N50	ns	ns	ns		ns	0,94	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AL R N50	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,82
AL T N50	ns	ns	ns	0,94	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns
AA H N50	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns
AA R N50	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns
AA T N50	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns
	AZ H N50	AZ R N50	AZ T N50	AL H N50	AL R N50	AL T N50	AA H N50	AA R N50	AA T N50	PS veg N50	PS fr N50	PS tot N50

Signos positivos indican correlación directa, signos negativos indican correlación inversa. Solamente se señalan las correlaciones estadísticamente significativas (p-valor < 0,005).

4.11. Análisis de componentes principales

Con el fin de identificar patrones comunes de partición de fotoasimilados en los genotipos ensayados, así como similitudes y diferencias en su respuesta al descenso en el aporte de N, se llevaron a cabo dos análisis de componentes principales (PCA), a partir de los caracteres relacionados con el contenido en carbohidratos y aminoácidos, que habían mostrado variación entre genotipos. En el análisis realizado con los materiales cultivados en condiciones óptimas de fertilización nitrogenada, las dos primeras componentes principales explican un 66,01% de la variación observada, contribuyendo el componente 1 y 2 con 38,76% y 27,25%, respectivamente.

Teniendo en cuenta el diagrama de dispersión (Figura 6) y la correlación de las distintas componentes con los caracteres analizados (Figura 7), podríamos diferenciar 3 grupos de variedades. Un primer grupo constituido por las accesiones 32 y 70 se caracterizan por elevados contenidos de carbohidratos en tallo y hoja, y un contenido bajo de azúcares solubles en raíz. Ahora bien, mientras la Ac32 presenta un elevado contenido de almidón en raíz y un bajo contenido de aminoácidos en tallo, la Ac70 presenta el patrón contrario, con bajo contenido de almidón en raíz y elevado contenido de aminoácidos en tallo.

Un segundo grupo, situado en el extremo opuesto del diagrama, lo constituyen las accesiones MM y Pi, que se caracterizan por bajos contenidos carbohidratos en hoja y tallo, pero elevados contenidos de azúcares y almidón en raíz. El contenido en aminoácidos en el tallo no es elevado, especialmente en la accesión Pi.

En la parte central del diagrama y con valores negativos de la componente 2, se encuentran las accesiones 35 y 82, con valores intermedios de carbohidratos en la parte aérea y de azúcares en raíz, pero con valores bajos de almidón en raíz y elevados de aminoácidos en tallo.

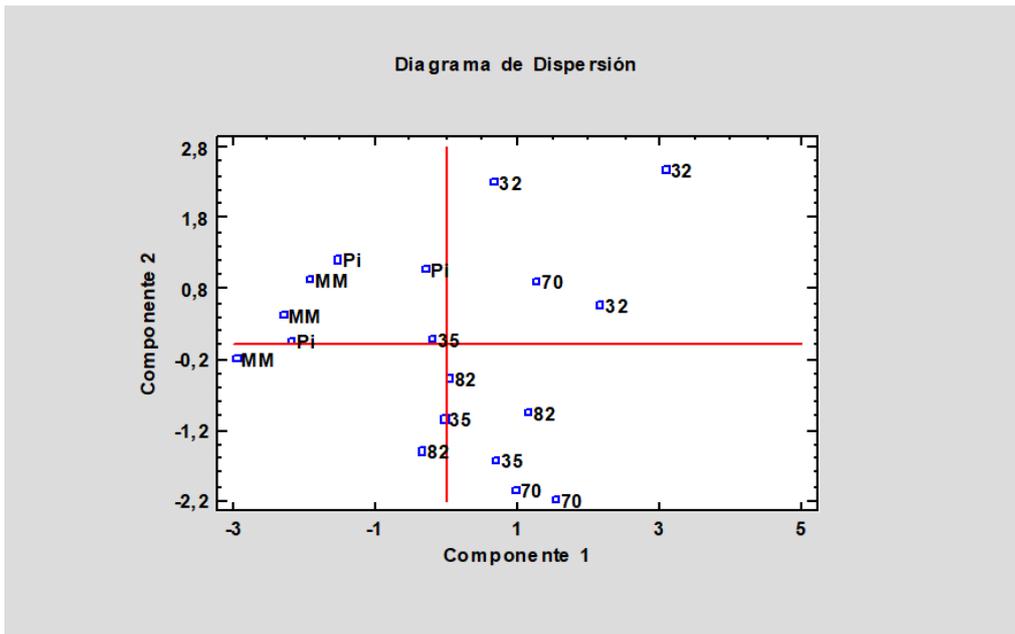


Figura 6. Diagrama de dispersión de las distintas accesiones, procedente del ACP realizado a partir de los contenidos en carbohidratos y aminoácidos, en plantas cultivadas en condiciones óptimas de fertilización nitrogenada (N 100: Nitrógeno 8mM) .MM, tomate comercial Moneymaker; Pi, accesión de *S. pimpinellifolium* To-937; 32, tomate tipo cagón, BVG3132; 70, de tipo cuarenteno accesión BVG 12570; 82, tomate pequeño de colgar accesión BVG 5482, 35 tipo Muchamiel.

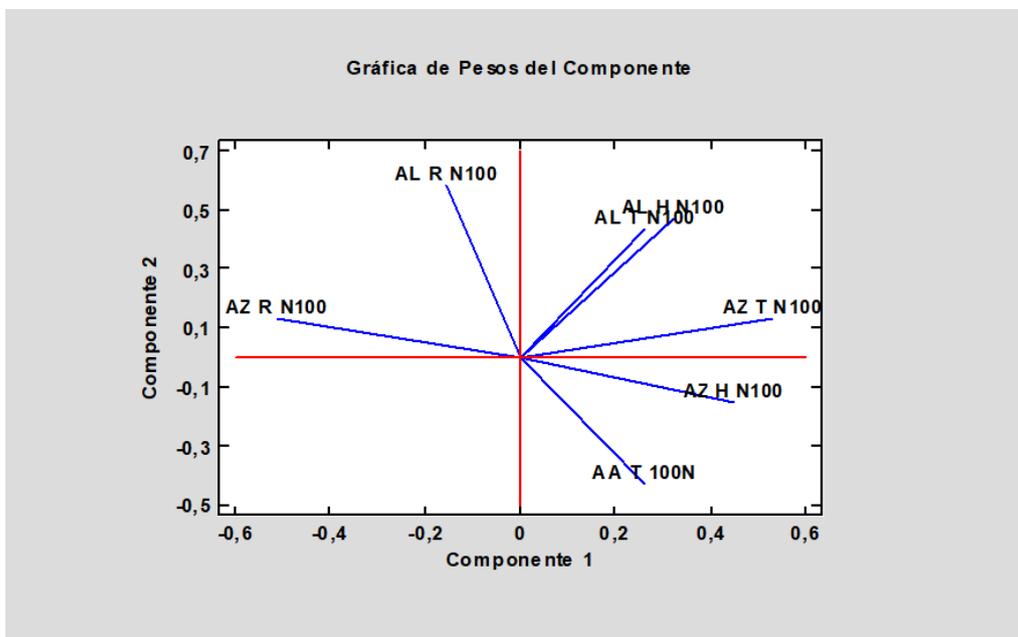


Figura 7. Correlaciones de los distintos caracteres analizados con las componentes 1 y 2 del ACP realizado a partir de los contenidos en carbohidratos y aminoácidos, en plantas cultivadas en condiciones óptimas de fertilización nitrogenada (N 100: Nitrógeno 8mM)

En el análisis a partir de plantas cultivadas en condiciones deficitarias de N, las tres primeras componentes principales explican un 79,13% de la variación observada, contribuyendo las componentes 1, 2 y 3 con un 32,78%, un 28,61% y un 17,74% respectivamente.

Teniendo en cuenta diagrama de dispersión (Figura 8) a partir de la representación de los valores de las componentes 1 y 3, y la correlación de estas componentes con los caracteres analizados (Figura 9), podemos también identificar un comportamiento distinto de los genotipos en estas condiciones. La Ac35, y en mayor medida la Ac70, presentan elevados valores de azúcares solubles en hoja y tallo, y valores bajos en raíz. Esta última accesión, acumula poco almidón en sus órganos. Las accesiones MM y Pi presentan valores bajos de azúcares en tallo y elevados en raíz. En estos genotipos, la acumulación de almidón se da también fundamentalmente en raíz y, la accesión Pi es la única que presenta un mayor contenido de aminoácidos en hoja. Las Ac32 y Ac82 muestran valores intermedios de azúcares en hoja y tallo y elevados de azúcar en raíz. Mientras la Ac32 acumula almidón en el vástago, la Ac82 lo hace en la raíz.

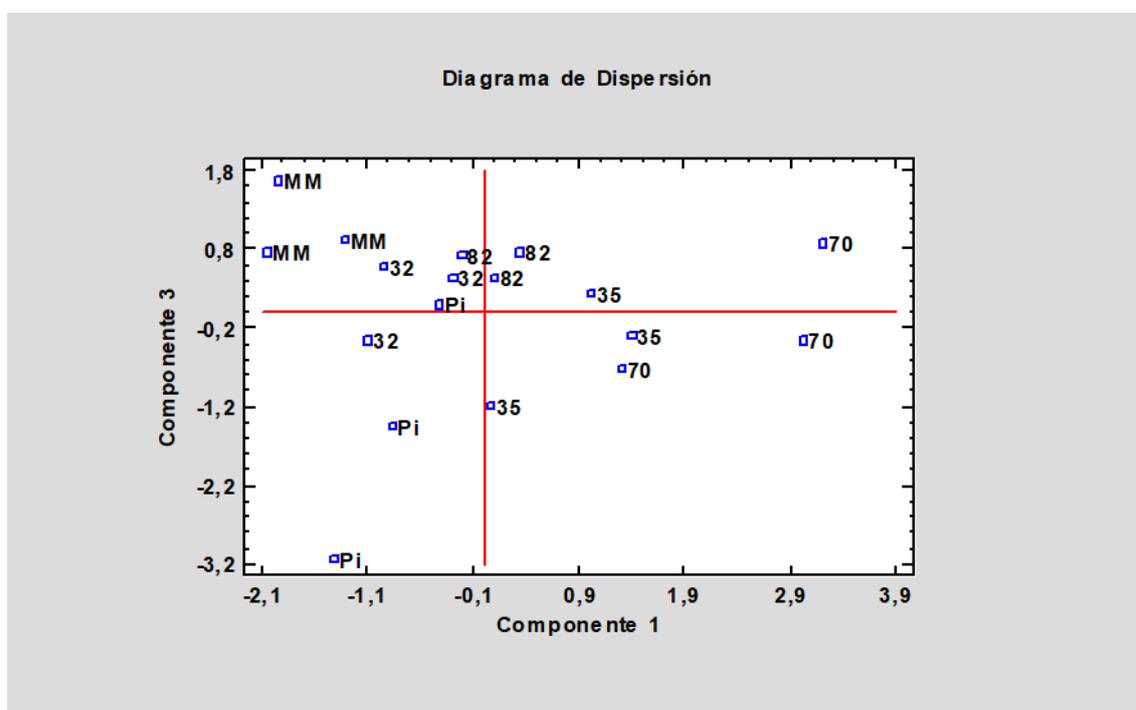


Figura 8. Diagrama de dispersión de las distintas accesiones, procedente del ACP realizado a partir de los contenidos en carbohidratos y aminoácidos, en plantas cultivadas en condiciones limitantes de fertilización nitrogenada (N 50: Nitrógeno 4mM). MM, tomate comercial Moneymaker; Pi, accesión de *S. Pimpinellifolium* To-937; 32, tomate tipo cagón, BVG3132; 70, de tipo cuarenteno accesión BVG 12570; 82, tomate pequeño de colgar accesión BVG 5482, 35 tipo Muchamiel.

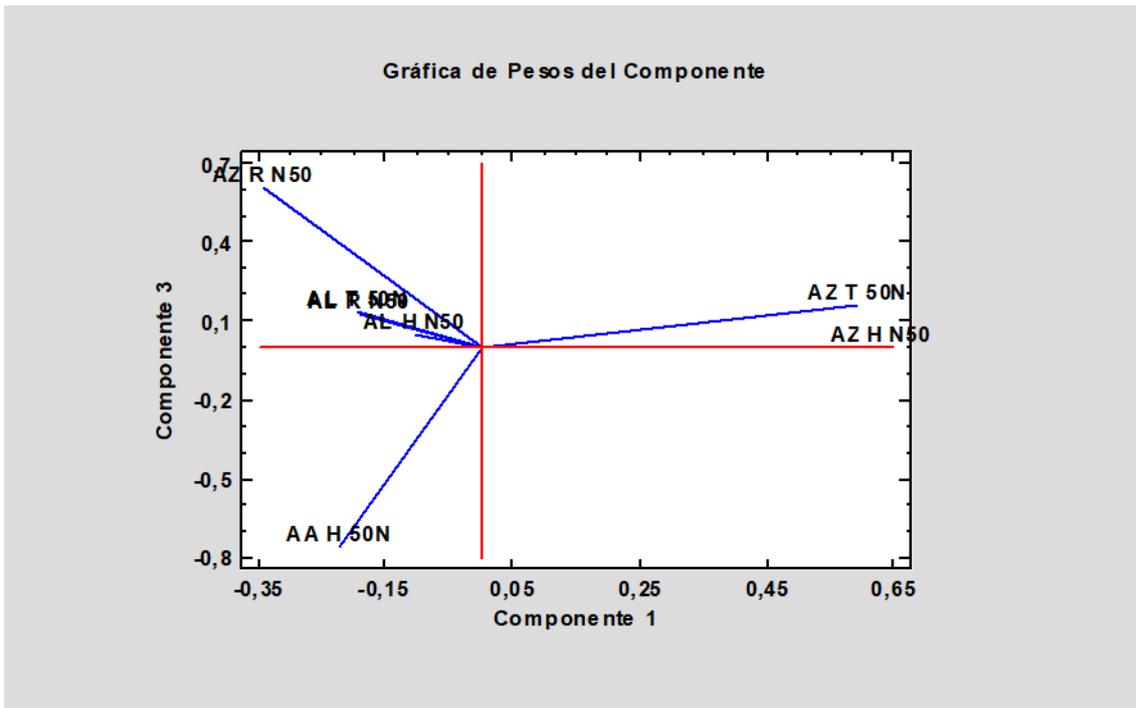


Figura 9. Correlaciones de los distintos caracteres analizados con las componentes 1 y 3 del ACP realizado a partir de los contenidos en carbohidratos y aminoácidos, en plantas cultivadas en condiciones limitantes de fertilización nitrogenada (N 50: Nitrógeno 4mM)

5. DISCUSIÓN

La producción de alimentos para satisfacer las necesidades de la población ha sido posible en este último siglo gracias al uso de fertilizantes en las prácticas agrícolas (Erisman et al., 2008). Esto vino acompañado de un gasto muy elevado de fertilizantes nitrogenados para cultivos intensivos, como por ejemplo el caso del tomate, por encima de su nivel de gasto óptimo de producción (Zotarelli et al., 2009). Esta sobrefertilización ha provocado, sin embargo, problemas de contaminación como la eutrofización de las aguas. Se ha estimado que el 50% del nitrógeno aportado se pierde y no es absorbido por la planta en la mayoría de cultivos (Morales et al., 2019). No obstante, las reducciones en el aporte de este nutriente pueden llevar a pérdidas de rendimiento relacionadas con un menor crecimiento de la planta y una reducción en el número de frutos (Benincasa et al., 2006). Frente a estas prácticas, han aflorado otras técnicas como la agricultura sostenible, que propone la reducción del aporte de estos insumos para reducir sus efectos nocivos, mediante la medición y el ajuste de la fertilización aportada al cultivo tanto en cantidad como en su diferencia según las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo del mismo (Masclaux-Daubresse et al., 2010; Truffault et al., 2019). Los cultivos de explotación intensiva han basado su producción en el uso de variedades seleccionadas en medios no limitantes de aporte de nutrientes y otros estreses. Esto ha repercutido en la existencia en la actualidad de variedades con una baja NUE, y por ello en la necesidad de estudiar genotipos y variedades silvestres adaptadas a un menor aporte de nitratos para el desarrollo de cultivares de mayor NUE (Maestre et al., 2008; Alvarado, 2020). Sin embargo, son pocos los estudios que se han publicado en los últimos años, sobre la respuesta de variedades de tomate frente a una reducción en el aporte de nitrógeno. Abenavoli et al. (2016) relacionaron las diferencias en NUE de los distintos cultivares con diferencias en la morfológica radicular y con la variabilidad en la expresión de transportadores vinculados a la captación y distribución de nitrógeno en la planta. Los autores concluyen que la partición de N en la planta varía en función de su disponibilidad y de la NUE de los genotipos. Este trabajo se llevó a cabo con la planta en estadio vegetativo sin poder concluir si las variaciones en la partición de asimilados afectaban a la producción.

En el presente trabajo se ha estudiado la variación en la partición de carbono y nitrógeno asimilado en genotipos de tomate, que han mostrado diferencias en la eficiencia en el uso del nitrógeno, en etapa reproductiva, así como su respuesta a una disminución del aporte del mismo.

5.1. Variación de la producción de biomasa en tomate en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno.

Una reducción en el aporte nitrogenado ocasiona pérdida en la producción y una reducción en la biomasa vegetativa. De igual manera, un aporte que exceda el nivel óptimo o un aporte por debajo de este ocasionará un desplazamiento de producción de biomasa hacia la parte vegetativa (Elia y conversa, 2012). Abenavoli et al. (2016), señalan también que aquellas plantas con una mayor NUE presentan un ligero aumento en el porcentaje de biomasa radicular debido a su mayor grosor y expansión, para poder absorber nutrientes de zonas más alejadas. En nuestro trabajo todas las accesiones estudiadas, con la excepción de MM, presentan un incremento en el porcentaje de peso seco radicular. Cabe destacar la Ac 32 y Ac 70 como las que presentan mayor variación en porcentaje de biomasa radicular.

El peso seco total de la planta depende del peso seco vegetativo, y la disminución del aporte de nitrógeno no varía esta vinculación. Igual que en los estudios llevados a cabo por Kashem et al. (2015), se ha correlacionado positivamente un mayor peso total con un mayor peso vegetativo.

El nivel de producción de los genotipos en condiciones óptimas de nitrógeno presenta una elevada correlación con su producción en condiciones limitadas, de forma que aquellas variedades con una mayor producción con una fertilización óptima, son aquellas que producen más en condiciones limitantes.

5.2. Metabolismo de C/N. Diferencias genotípicas y efecto de la limitación en el aporte de N

La movilización de fotoasimilados desde los tejidos fotosintéticos permite que los diferentes órganos dispongan de sustrato para su crecimiento y mantenimiento (Azcón-bieto y Talón, 2008). Los carbohidratos producidos en la planta aportan energía y esqueletos carbonados imprescindibles para los diferentes procesos metabólicos. Por lo que, por ejemplo, la acumulación de biomasa está directamente relacionada con la fijación de CO₂ en la fotosíntesis. Los requerimientos de nitrógeno son diferentes según la etapa de desarrollo de la planta. En periodo vegetativo, son las raíces y los brotes los que actúan como sumideros de compuestos producidos durante el proceso de fotosíntesis. Las hojas completamente desarrolladas pasan a ser órganos fuente cuando logran su máxima expansión foliar (Terabayashi *et al.*, 2004). Sin embargo, en período de desarrollo y cosecha de frutos, estos órganos pasan a ser los principales sumideros de asimilados (Montoya et al., 2002).

De esta manera, la asimilación del nitrógeno, una vez absorbido por las raíces, pasa a formar parte como ácidos nucleicos y aminoácidos, que constituirán las proteínas o servirán de sustrato para numerosos metabolitos secundarios. Cuando este nutriente se ve limitado, las hojas pierden rendimiento y eficacia fotosintética; lo que se ve traducido en una reducción de su tamaño y número, es decir, en una disminución del área foliar (Scholberg et al., 2000). Relacionar variaciones en el metabolismo C/N con las diferencias observadas en la NUE, permitirá identificar procesos clave que determinen una mayor eficiencia.

Una de las estrategias que siguen las plantas frente a condiciones de deficiencia nitrogenada es la acumulación de carbohidratos en los diferentes tejidos de la planta como raíz, tallo y hojas. En caso de deficiencia, se acumula para emplearse como fuente de energía y carbono para el crecimiento y desarrollo de la planta garantizando su suministro. Al reducirse el carbono utilizado para el crecimiento vegetativo y la propia asimilación de nitrógeno, este pasa a almacenarse como azúcares solubles o almidón (Villar Salvador et al., 2013). Sin embargo, cuando la fertilización es óptima, la producción de azúcares se utiliza en el crecimiento y desarrollo, ya que hay suficiente nitrógeno para sintetizar proteínas y demás compuestos para el crecimiento.

En nuestro trabajo se aprecia una gran variabilidad en el contenido de carbohidratos y aminoácidos tanto entre órganos como entre accesiones. No se ha determinado una respuesta común frente a la disminución del aporte de nitrógeno, por lo que se comentará el comportamiento de cada accesión de manera individual. La Ac32 mantiene los niveles de azúcares en raíz, tallo y hoja frente a un cambio en el aporte de nitrógeno. Sin embargo, se da un aumento muy elevado en los niveles de almidón en hoja. Esto permite mantener sin variación los niveles de azúcares en este órgano. No obstante, hay que señalar que el valor incrementado de almidón en tallo no resulta significativo por la gran variabilidad existente en este tipo de

determinaciones. De manera diferente en la Ac35, se da un aumento de azúcares solubles en hoja. Su contenido en almidón aumenta en hoja y raíz, en donde se da el mayor almacenamiento, manteniéndose los niveles de azúcares solubles (Ramírez et al., 2004). La Ac70 también incrementa notablemente su contenido en azúcares solubles en hoja, y se produce un aumento del contenido en almidón solamente en la raíz. Un mayor contenido en azúcares solubles no se traduce en este caso con su almacenamiento como almidón. Este comportamiento no se da en la Ac 82, en la cual aumentan levemente los azúcares solubles y el contenido en almidón en hoja. En este caso la raíz vuelve a ser la que almacena mayor contenido de almidón por encima de cualquiera de las accesiones estudiadas. Estas diferencias pequeñas de almacenamiento de carbohidratos en hoja pueden ser debidas a la traslocación de estos hacia la raíz, que presenta un valor muy elevado, o a su gasto en diferentes procesos metabólicos. MM disminuye el contenido de azúcares en hoja y tallo, lo que puede traducirse en la translocación de estos fotoasimilados hacia la raíz para su almacenamiento, según confirman estudios de Renau-Morata et al. (2021). De manera similar el almidón disminuye levemente en hoja y aumenta en gran proporción en raíz, lo que puede deberse a la movilización de carbohidratos almacenados como almidón, desde las hojas. Por último, cabe destacar el comportamiento de la especie silvestre, la cual mantiene los niveles de azúcares solubles en todos los órganos. El contenido de almidón no presenta diferencias en raíz y tallo, y desciende levemente en hoja. Diferencias en la regulación fotosintética podrían explicar parcialmente los resultados.

Cada accesión se comporta de manera distinta a la variación en el aporte nitrogenado en los diferentes órganos vegetativos cuando la demanda de carbohidratos se reduce en el fruto en las condiciones de estrés nutricional. Estas modificaciones responden a diferentes hipótesis respecto del metabolismo de las plantas y de cómo se efectúa la partición y transporte de fotoasimilados cuando se modifica la disponibilidad de nutrientes como el nitrógeno (Li et al., 2016; Gómez et al., 2017; Grzebisz et al., 2020). De manera que existen accesiones que no varían su contenido en carbohidratos porque lo pueden estar gastando en otros procesos metabólicos o translocándolo a otros órganos sumideros; o bien que presenten valores altos y los almacenen. Sin embargo, existen algunos patrones que se dan de forma consistente en todas las accesiones. Así en todas ellas, se da una mayor utilización de los esqueletos carbonados en la síntesis de aminoácidos y otros fotoasimilados que serán exportados a órganos sumideros (Wang et al., 2020; Aluko et al., 2021; López-Delacalle et al., 2021).

El contenido de aminoácidos en hoja se mantiene en condiciones de aporte limitado de N, mientras desciende su contenido en tallo y raíz. Estos órganos son capaces de modificar sus procesos metabólicos para satisfacer a la hoja de los aminoácidos necesarios (Hesse et al., 2004; Veliz, 2010). La accesión silvestre es la única que mantiene el contenido de aminoácidos en tallo, frente a las demás accesiones que lo reducen. Una menor síntesis de carbohidratos podría estar relacionada con una menor necesidad de aminoácidos.

La relación C/N se identifica como un indicador de crecimiento y calidad de la planta, la cual se ve más afectada por el contenido de nitrógeno. Generalmente este último varía más que el contenido en carbono, que se presenta con un valor más constante a pesar de la variación en la fertilización (Royer et al., 2013). En nuestro estudio, también se observa que el %C presenta menor variación que el %N cuando las plantas se cultivan en condiciones limitantes de N. Las accesiones con valores altos de peso seco tienen también valores altos de porcentaje de carbono, componente principal de los tejidos vegetales.

En este trabajo, sin embargo, no se ha observado correlación entre el peso seco y el porcentaje de nitrógeno. La concentración de nitrógeno en planta está influida por la biomasa total producida y depende del estado de desarrollo de esta (Montoya et al., 2002).

En su conjunto, los resultados de este estudio revelan la presencia de diferentes respuestas en el metabolismo y partición de los fotoasimilados entre las distintas variedades con diferentes NUE que han sido sometidas a una limitación en el aporte de N. No se puede definir una estrategia metabólica común para aquellas variedades con una mayor eficiencia del uso del nitrógeno.

6. CONCLUSIONES

- 1.** El contenido en azúcares solubles, almidón, y aminoácidos totales varía entre los distintos órganos de la planta, y esta partición muestra variaciones entre genotipos que difieren en su producción y eficiencia en el uso del N.
- 2.** En condiciones de suministro óptimo de N, los azúcares se acumulan mayoritariamente en tallo o raíz, en función del genotipo, pero no en hoja. La acumulación de almidón tiene lugar, en mayor medida, en raíz, y el tallo es el órgano con un mayor contenido en aminoácidos. No obstante, existen diferencias en el contenido de estos fotoasimilados entre los genotipos ensayados, sugiriendo diferentes estrategias de uso y partición.
- 3.** La disminución en el aporte nitrogenado da lugar a un incremento general en el contenido en carbohidratos, pero existen diferencias genotípicas en su partición. El contenido en aminoácidos, bajo esta limitación, desciende en tallo y raíz, pero mantiene los niveles en hoja, en todos los genotipos.
- 4.** Es posible definir grupos de variedades con patrones similares de partición de fotoasimilados y en respuesta al descenso del N, pero no es posible identificar una estrategia metabólica que conduzca a un mayor uso en la eficiencia del N, en ninguna de las condiciones ensayadas.

7. ANEXOS

ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030

Tabla I de anexos. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

Objetivos de desarrollo Sostenibles	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza.				X
ODS 2. Hambre cero.	X			
ODS 3. Salud y bienestar.				X
ODS 4. Educación de calidad.				X
ODS 5. Igualdad de género.				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento.				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante.				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico.				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras.				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades.				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles.				X
ODS 12. Producción y consumo responsables.				X
ODS 13. Acción por el clima.	X			
ODS 14. Vida submarina.				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres.				X
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas.				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abenavoli, M. R., Longo, C., Lupini, A., Miller, A. J., Araniti, F., Mercati, F., ... & Sunseri, F. (2016). Phenotyping two tomato genotypes with different nitrogen use efficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, *107*, 21-32.
- Aluko, O. O., Li, C., Wang, Q., & Liu, H. (2021). Sucrose utilization for improved crop yields: A review article. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4704.
- Alvarado Portillo, L. E. (2020). Efecto de la fertilización de nitrógeno sobre los parámetros de calidad del fruto de tomate (*solanum lycopersicum l.*) de una colección de entradas de variedades locales de tomate 'de penjar'. Tesis de Máster. UPV. Valencia.
- Azcón-Bieto, J. & M. Talón. (2008). Fundamentos de fisiología vegetal. 2ª ed. McGraw-Hill - Interamericana y UBE Editores, Madrid, España.
- Banco Mundial. (2020). Agricultura, fertilizantes (% del total de fertilizantes). Recuperado de <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS>
- Barbieri, P. A., Echeverría, H. E., Saínz Rozas, H. R., & Maringolo, M. (2010). Fertilización de maíz con urea de liberación lenta: pérdida por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno. *Ciencia del suelo*, *28*(1), 57-66.
- Benincasa, P., Beccafichi, C., Guiducci, M., & Tei, F. (2006). Source-sink relationship in processing tomato as affected by fruit load and nitrogen availability. *Acta Horticulturae*, *700*, 63.
- Bloom, A. J. (2015). The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. *Current opinion in plant biology*, *25*, 10-16.
- Coruzzi, G. M., & Zhou, L. (2001). Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging 'matrix effects'. *Current opinion in plant biology*, *4*(3), 247-253.
- Dinkeloo, K., Boyd, S., & Pilot, G. (2018, February). Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 74, pp. 105-113). Academic Press.
- Elia, A., & Conversa, G. (2012). Agronomic and physiological responses of a tomato crop to nitrogen input. *European Journal of Agronomy*, *40*, 64-74.
- Erismann, J. W., Sutton, M. A., Galloway, J., Klimont, Z., & Winiwarter, W. (2008). How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, *1*(10), 636-639.
- FAO (2011). *El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura. La gestión de los sistemas en situación de riesgo*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, y Mundi-Prensa, Madrid
- FAO, FIDA, OMS, PMA & UNICEF. (2019). *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2019. Protegerse frente a la desaceleración y el debilitamiento de la economía*. Roma, FAO. (Vol.2019).
- FAO. (2021). *El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura - Sistemas al límite. Informe de síntesis 2021*. Rome.

- FAO. (2021). Producción mundial de tomate 2021. Recuperado de [https://hortoinfo.es/produccion-mundial-tomate-2021/#:~:text=En%20el%20a%C3%B1o%202021%20se,y%20la%20Agricultura%20\(FAO\).](https://hortoinfo.es/produccion-mundial-tomate-2021/#:~:text=En%20el%20a%C3%B1o%202021%20se,y%20la%20Agricultura%20(FAO).)
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (Eds.). (2006). *Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism* (Vol. 12). Springer Science & Business Media.
- Gallais, A., & Coque, M. (2005). Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Maydica*, 50(3/4), 531.
- García Miranda, F. G. y Miranda Rosales, V. (2018). Eutrofización, una amenaza para el recurso hídrico. En: *Impacto socio-ambiental, territorios sostenibles y desarrollo regional desde el turismo*. Universidad Nacional Autónoma de México y Asociación Mexicana de Ciencias para el Desarrollo Regional A.C.
- García, F. O., & González Sanjuan, M. F. (2016). Consumo de fertilizantes en el mundo y en la Argentina. *Sustentabilidad de los agrosistemas y uso de fertilizantes. Orientación Grafica Editora-AACS-Fertilizar AC, Buenos Aires, Argentina*, 61-84.
- García, S. C. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Cuadernos del Tomás*, (3), 173-186.
- Gómez, M. I., Magnitskiy, S., Rodríguez, L. E., & Darghan, A. E. (2017). Accumulation of N, P, and K in the tubers of potato (*Solanum tuberosum* L. ssp. andigena) under contrasting soils of the Andean region of Colombia. *Agronomía colombiana*, 35(1), 59-67.
- Grzebisz, W., Szczepaniak, W., & Bocianowski, J. (2020). Potassium fertilization as a driver of sustainable management of nitrogen in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Field crops research*, 254, 107824.
- Hesse, H., Nikiforova, V., Gakière, B., & Hoefgen, R. (2004). Molecular analysis and control of cysteine biosynthesis: integration of nitrogen and sulphur metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 55(401), 1283-1292.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). *The Water-culture Method for Growing Plants Without Soil*. Amsterdam University Press.
- Iáñez E. (2007). Más allá de la revolución verde: un papel para la biotecnología. Instituto de Biotecnología. Recuperado de : <https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/agricultura.htm>.
- IDAE (Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía). (2007). Ahorro, eficiencia energética y fertilización nitrogenada. IDAE. Madrid. 44 p.
- Ireland, R. J., & Lea, P. J. (1999). *The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine, and aspartate metabolism* (pp. 49-109). New York: Marcel Dekker, Inc.
- John, L. B. (1967). *Techniques in Protein Chemistry*. Elsevier Publishing Company
- Kashem, M. A., Sarker, A., Hossain, I., & Islam, M. S. (2015). Comparison of the effect of vermicompost and inorganic fertilizers on vegetative growth and fruit production of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Open Journal of Soil Science*, 5(02), 53.
- Khan, M. N., & Mohammad, F. (2014). Eutrophication: challenges and solutions. *Eutrophication: Causes, Consequences and Control: Volume 2*, 1-15

- Li, W., Xiong, B., Wang, S., Deng, X., Yin, L., & Li, H. (2016). Regulation effects of water and nitrogen on the source-sink relationship in potato during the tuber bulking stage. *PloS one*, *11*(1), e0146877.
- Lopez-Delacalle, M., Camejo, D., Garcia-Marti, M., Lopez-Ramal, M. J., Nortes, P. A., Martinez, V., & Rivero, R. M. (2021). Deciphering fruit sugar transport and metabolism from tolerant and sensitive tomato plants subjected to simulated field conditions. *Physiologia Plantarum*, *173*(4), 1715-1728.
- Maestre Alfonso, J., Casas Gragea, A. & González Jacome, A., (2008). Nuevas Rutas Para El Desarrollo En América Latina. México, D.F.: Universidad Iberoamericana.
- Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., & Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of botany*, *105*(7), 1141-1157.
- McCready, R., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H.. (1950). Determination of Starch and Amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, *22*(9): 1156 – 1158
- Moll, R. H., Kamprath, E. J., & Jackson, W. A. (1982). Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization 1. *Agronomy journal*, *74*(3), 562-564.
- Montoya, R. B., Spinola, A. G., García, P. S., & Paredes, D. G. (2002). Acumulación diaria de materia seca y de potasio en la biomasa aérea total de tomate. *Terra Latinoamericana*, *20*(4), 401-409
- Moore, S., & Stein, W. H. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *Journal of Biological Chemistry*, *211*, 907-913.
- Morales-Morales, E. J., Rubí-Arriaga, M., López-Sandoval, J. A., Martínez-Campos, Á. R., & Morales-Rosales, E. J. (2019). Urea (NBPT) an alternative in the nitrogen fertilization of annual crops. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *10*(8), 1875-1886.
- Näsholm, T., Kielland, K., & Ganeteg, U. (2009). Uptake of organic nitrogen by plants. *New phytologist*, *182*(1), 31-48.
- Perchlik, M., & Tegeder, M. (2017). Improving plant nitrogen use efficiency through alteration of amino acid transport processes. *Plant physiology*, *175*(1), 235-247.
- Ramírez, O., Cabrera, A., & Corbera, J. (2004). Fertilización nitrogenada de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en la provincia de Holguín. Dosis óptima de nitrógeno. *Cultivos Tropicales*, *25*(2), 75-80.
- Ramos, C. (2005). El análisis del nitrógeno mineral del suelo como guía para la fertilización nitrogenada de los cultivos hortícolas. In *I Jornadas del Grupo de fertilización de la SECH. Sistemas de recomendación de abonado*. (pp. 95-102). SECH.
- Ramos, C., Alcántar, G., Galvis, A., Peña, A., & Martínez, A. (2002). Eficiencia de uso del nitrógeno en tomate de cáscara en fertirriego. *Terra Latinoamericana*, *20*(4), 465-469.
- Renau-Morata, B., Molina, R. V., Minguet, E. G., Cebolla-Cornejo, J., Carrillo, L., Martí, R., ... & Nebauer, S. G. (2021). Integrative transcriptomic and metabolomic analysis at organ scale reveals

gene modules involved in the responses to suboptimal nitrogen supply in tomato. *Agronomy*, 11(7), 1320.

Rodríguez Santamarta, V. (2022). *Respuesta de transportadores de nitrato a la deficiencia de nitrógeno en cultivares de tomate con eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) diferencial* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).

Rosa-Martínez, E., Adalid, A. M., Alvarado, L. E., Burguet, R., García-Martínez, M. D., Pereira-Dias, L., ... & Soler, S. (2021). Variation for composition and quality in a collection of the resilient Mediterranean 'de penjar' Long Shelf-Life tomato under high and low N fertilization levels. *Frontiers in Plant Science*, 12, 633957.

Royer, M., Larbat, R., Le Bot, J., Adamowicz, S., & Robin, C. (2013). Is the C: N ratio a reliable indicator of C allocation to primary and defence-related metabolisms in tomato?. *Phytochemistry*, 88, 25-33.

Ruiz, R., & Guardiola, J. L. (1994). Carbohydrate and mineral nutrition of orange fruitlets in relation to growth and abscission. *Physiologia Plantarum*, 90(1), 27-36.

Scholberg, J., McNeal, B. L., Boote, K. J., Jones, J. W., Locascio, S. J., & Olson, S. M. (2000). Nitrogen stress effects on growth and nitrogen accumulation by field-grown tomato. *Agronomy Journal*, 92(1), 159-167.

Silva, A. R. E., Cobelas, M. Á., & González, E. M. (2017). Impactos del nitrógeno agrícola en los ecosistemas acuáticos. *Ecosistemas*, 26(1), 37-44.

Sobalvarro, K. K. H., & Lina, M. C. A. (2018). La revolución verde. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 4(8), 1040-1052.

Stitt, M. (1990). Fructose-2, 6-bisphosphate as a regulatory molecule in plants. *Annual review of plant biology*, 41(1), 153-185.

Tegeder, M. (2014). Transporters involved in source to sink partitioning of amino acids and ureides: opportunities for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 65(7), 1865-1878.

Tegeder, M., & Masclaux-Daubresse, C. (2018). Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. *New phytologist*, 217(1), 35-53.

Tegeder, M., & Rentsch, D. (2010). Uptake and partitioning of amino acids and peptides. *Molecular plant*, 3(6), 997-1011.

Terabayashi, S., Muramatsu, I., Tokutani, S., Ando, M., Kitagawa, E., Shigemori, T., ... & Fujime, Y. (2004). Relationship between the weekly nutrient uptake rate during fruiting stages and fruit weight of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grown hydroponically. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 73(4), 324-329.

Truffault, V., Ristorto, M., Brajeul, E., Vercambre, G., & Gautier, H. (2019). To stop nitrogen overdose in soilless tomato crop: A way to promote fruit quality without affecting fruit yield. *Agronomy*, 9(2), 80.

Vance, C. P., & Griffith, S. M. (1997). The molecular biology of N metabolism. *Plant metabolism*, 2, 449-477.

- Veliz, C. G. (2010). *Impacto de la deficiencia combinada de nitrógeno y azufre sobre la removilización de aminoácidos y azúcares en plantas de cebada (Hordeum vulgare L.)* (Doctoral dissertation, Universidad de Belgrano. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Villar-Salvador, P., Peñuelas, J. L., & Jacobs, D. F. (2013). Nitrogen nutrition and drought hardening exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree physiology*, *33*(2), 221-232.
- Wang, R., Gui, Y., Zhao, T., Ishii, M., Eguchi, M., Xu, H., ... & Iwasaki, Y. (2020). Determining the relationship between floral initiation and source–sink dynamics of tomato seedlings affected by changes in shading and nutrients. *HortScience*, *55*(4), 457-464.
- Weih, M., Asplund, L., & Bergkvist, G. (2011). Assessment of nutrient use in annual and perennial crops: A functional concept for analyzing nitrogen use efficiency. *Plant and Soil*, *339*, 513-520.
- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual review of plant biology*, *63*, 153-182.
- Yao, X., Nie, J., Bai, R., & Sui, X. (2020). Amino acid transporters in plants: Identification and function. *Plants*, *9*(8), 972.
- Zotarelli, L., Scholberg, J. M., Dukes, M. D., Muñoz-Carpena, R., & Icerman, J. (2009). Tomato yield, biomass accumulation, root distribution and irrigation water use efficiency on a sandy soil, as affected by nitrogen rate and irrigation scheduling. *Agricultural water management*, *96*(1), 23-34.